

令和元年6月24日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09854

研究課題名(和文)PNHの真の病態とは何か? : PNHにおける網羅的遺伝子解析とiPS細胞バンク創設

研究課題名(英文)What is the true pathophysiology of PNH?: comprehensive analyses of gene and establishment of iPS cells from PNH patients

研究代表者

野地 秀義 (Noji, Hideyoshi)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20347214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子解析は共同研究で進行中であり、本研究期間中は、PNH症例から得た造血細胞をもとにiPS細胞の作製に主眼を置くこととした。現在も、健康人の造血細胞からの作製・分化傾向の確認などの試行中である。我々が得た細胞は、元となる細胞の性質が残存しているようで、一定の各造血細胞への分化傾向があり、不完全である。PNHの病態の形質には、赤芽球、血小板(巨核球)、顆粒球、単球、各種リンパ球が、単独あるいは相互に関連している治験があるので、一定の分化傾向がない性質をもつiPS細胞を作成することが必要であるからである。今後も研究を進め、高品質のiPS細胞の作製を継続する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、これまでの研究と東北6県および北海道地区のPNH症例(登録50例)を対象とした凝固異常、造血状態異常および自己免疫異常の病態調査を行っており、PNHでこれまで考えられていた溶血以外の因子による血栓発症機序、PNHクローンの拡大には、腫瘍性増殖や免疫学的な攻撃を回避する機序、免疫学的異常や造血障害による血球減少が複雑に絡み合っている知見を得た。本研究では、すでに臨床病態が明らかなPNH症例を対象として、網羅的遺伝子解析を行いPNHの遺伝子異常を明らかにするとともに、種々の病態を示すPNH症例由来のiPS細胞を作成し、PNH病態モデルを作成することを目的に開始された。

研究成果の概要(英文)：We are now investigating comprehensive analyses of gene and establishing of iPS cells from PNH patients. Our iPS cells from PNH patients analyzed in this investigation have some characters of original cell lineage. We must establish perfect iPS cells, because we think that the pathophysiology of PNH is associated with all cell lineage.

研究分野：PNH

キーワード：PNH iPS

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々は、これまでの研究と東北6県および北海道地区のPNH症例(登録50例)を対象とした凝固異常、造血状態異常および自己免疫異常の病態調査を行っており、PNHでこれまで考えられていた溶血以外の因子による血栓発症機序、PNHクローンの拡大には、腫瘍性増殖や免疫学的な攻撃を回避する機序、免疫学的異常や造血障害による血球減少が複雑に絡み合っている知見を得た。

### 2. 研究の目的

本研究では、臨床病態が明らかなPNH症例50例を対象として、網羅的遺伝子解析を行いPNHの遺伝子異常を明らかにするとともに、種々の病態を示すPNH症例由来のiPS細胞を作成し、PNH病態モデルを作成する。

### 3. 研究の方法

本研究では、PNH症例は本学付属病院、その関連病院のPNH症例および現在、進行中の東北PNH研究会の臨床研究に参画している50例のPNH症例の既に診断・病態が明らかになっている症例から選定する。網羅的遺伝子解析は50例のPNH症例の末梢血を用いておこない、臨床データと対比し評価する。また、iPS細胞の作製、分化誘導、その評価は種々の病態を有するPNH症例2-3例を対象として、計10-17症例を選定して行う。

### 3. 研究成果

我々は、これまでの研究と東北6県および北海道地区のPNH症例(登録50例)を対象とした凝固異常、造血状態異常および自己免疫異常の病態調査を行っており、PNHでこれまで考えられていた溶血以外の因子による血栓発症機序、PNHクローンの拡大には、腫瘍性増殖や免疫学的な攻撃を回避する機序、免疫学的異常や造血障害による血球減少が複雑に絡み合っている知見を得た。本研究では、すでに臨床病態が明らかなPNH症例を対象として、網羅的遺伝子解析を行いPNHの遺伝子異常を明らかにするとともに、種々の病態を示すPNH症例由来のiPS細胞を作成し、PNH病態モデルを作成することを目的に開始された。遺伝子解析は共同研究で進行中であり、本研究期間中は、PNH症例から得た造血細胞をもとにiPS細胞の作製に主眼を置くこととした。現在も、健常人の造血細胞からの作製・分化傾向の確認などの試行中である。我々が得た細胞は、元となる細胞の性質が残存しているようで、一定の各造血細胞への分化傾向があり、不完全である。PNHの病態の形質には、赤芽球、血小板(巨核球)、顆粒球、単球、各種リンパ球が、単独あるいは相互に関連している治験があるので、一定の分化傾向がない性質をもつiPS細胞を作成することが必要であるからである。今後も研究を進め、高品質のiPS細胞の作製を継続するつもりである。

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

1: Mita M, Shichishima T, Noji H, Takahashi H, Nakamura KI, Ikezoe T. Independent Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and Myelodysplastic Syndrome Clones in a Patient With Complete Bone Marrow Failure. *Hemasphere*. 2018 Oct;2(5):e142. doi: 10.1097/HS9.000000000000142. Epub 2018 Oct 2. PubMed PMID: 30887006; PubMed Central PMCID: PMC6407802.

2: Kameoka Y, Akagi T, Murai K, Noji H, Kato Y, Sasaki O, Ito S, Ishizawa K, Ishida Y, Ichinohasama R, Harigae H, Takahashi N. Safety and efficacy of high-dose ranimustine (MCNU) containing regimen followed by autologous stem cell transplantation for diffuse large B-cell lymphoma. *Int J Hematol*. 2018 Nov;108(5):510-515. doi: 10.1007/s12185-018-2508-1. Epub 2018 Jul 24. PubMed PMID: 30043334.

3: Hosokawa K, Sugimori C, Ishiyama K, Takamatsu H, Noji H, Shichishima T, Obara N, Chiba S, Ninomiya H, Shirasugi Y, Nakamura Y, Ando K, Ueda Y, Yonemura Y, Kawaguchi T, Nishimura JI, Kanakura Y, Nakao S. Establishment of a flow cytometry assay for detecting paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells specific to patients with bone marrow failure. *Ann Hematol*. 2018 Dec;97(12):2289-2297. doi: 10.1007/s00277-018-3443-1. Epub 2018 Jul 24. PubMed PMID: 30039297.

4: Ueda Y, Obara N, Yonemura Y, Noji H, Masuko M, Seki Y, Wada K, Matsuda T,

- Akiyama H, Ikezoe T, Chiba S, Kanda Y, Kawaguchi T, Shichishima T, Nakakuma H, Okamoto S, Nishimura JI, Kanakura Y, Ninomiya H. Correction to: Effects of eculizumab treatment on quality of life in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Japan. *Int J Hematol*. 2018 Aug;108(2):233-235. doi: 10.1007/s12185-018-2486-3. PubMed PMID: 29980910.
- 5: Ueda Y, Obara N, Yonemura Y, Noji H, Masuko M, Seki Y, Wada K, Matsuda T, Akiyama H, Ikezoe T, Chiba S, Kanda Y, Kawaguchi T, Shichishima T, Nakakuma H, Okamoto S, Nishimura JI, Kanakura Y, Ninomiya H. Effects of eculizumab treatment on quality of life in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Japan. *Int J Hematol*. 2018 Jun;107(6):656-665. doi: 10.1007/s12185-018-2409-3. Epub 2018 Jan 30. Erratum in: *Int J Hematol*. 2018 Aug;108(2):233-235. PubMed PMID: 29383624.
- 6: Kawamura F, Inaki M, Katafuchi A, Abe Y, Tsuyama N, Kurosu Y, Yanagi A, Higuchi M, Muto S, Yamaura T, Suzuki H, Noji H, Suzuki S, Yoshida MA, Sasatani M, Kamiya K, Onodera M, Sakai A. Establishment of induced pluripotent stem cells from normal B cells and inducing AID expression in their differentiation into hematopoietic progenitor cells. *Sci Rep*. 2017 May 10;7(1):1659. doi: 10.1038/s41598-017-01627-1. PubMed PMID: 28490810; PubMed Central PMCID: PMC5431994.
- 7: Yokoyama H, Takahashi N, Katsuoka Y, Inomata M, Ito T, Meguro K, Kameoka Y, Tsumanuma R, Murai K, Noji H, Ishizawa K, Ito S, Onishi Y, Harigae H; Tohoku Hematology Forum. Evaluation of the safety and efficacy of recombinant soluble thrombomodulin for patients with disseminated intravascular coagulation associated with acute leukemia: multicenter prospective study by the Tohoku Hematology Forum. *Int J Hematol*. 2017 May;105(5):606-613. doi: 10.1007/s12185-017-2190-8. Epub 2017 Feb 7. PubMed PMID: 28176226.
- 8: Tajima K, Takahashi N, Ishizawa K, Murai K, Akagi T, Noji H, Sasaki O, Wano M, Itoh J, Kato Y, Shichishima T, Harigae H, Ishida Y; Tohoku Hematology Forum. Clinicopathological characteristics of malignant lymphoma in patients with hepatitis C virus infection in the Tohoku district in Eastern Japan. *Leuk Lymphoma*. 2017 Jun;58(6):1509-1511. doi: 10.1080/10428194.2016.1236376. Epub 2016 Oct 10. PubMed PMID: 27724155.
- 9: Shikama Y, Cao M, Ono T, Feng X, Noji H, Kimura H, Ogawa K, Suzuki Y, Ikeda K, Takeishi Y, Kimura J. Reduction of c-Fos via Overexpression of miR-34a Results in Enhancement of TNF- Production by LPS in Neutrophils from Myelodysplastic Syndrome Patients. *PLoS One*. 2016 Aug 11;11(8):e0158527. doi: 10.1371/journal.pone.0158527. eCollection 2016. PubMed PMID: 27513856; PubMed Central PMCID: PMC4981319.
- 10: Takahashi N, Kameoka J, Takahashi N, Tamai Y, Murai K, Honma R, Noji H, Yokoyama H, Tomiya Y, Kato Y, Ishizawa K, Ito S, Ishida Y, Sawada K, Harigae H. Causes of macrocytic anemia among 628 patients: mean corpuscular volumes of 114 and 130 fL as critical markers for categorization. *Int J Hematol*. 2016 Sep;104(3):344-57. doi: 10.1007/s12185-016-2043-x. Epub 2016 Jun 28. PubMed PMID: 27352093.
- 11: Tajima K, Takahashi N, Ishizawa K, Murai K, Akagi T, Noji H, Sasaki O, Wano M, Itoh J, Kato Y, Scichishima T, Ishida Y, Harigae H, Sawada K; Tohoku Hematology Forum. High prevalence of diffuse large B-cell lymphoma in occult hepatitis B virus-infected patients in the Tohoku district in Eastern Japan. *J Med Virol*. 2016 Dec;88(12):2206-2210. doi: 10.1002/jmv.24584. Epub 2016 Jun 6. PubMed PMID: 27219865.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 該当なし

## 6. 研究組織

(1)研究分担者 該当なし

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。